



PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

| | | | |
|--|--|---|---|
| (51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : C07D 493/04 // (C07D 493/04, 313:00, 303:00) | | A1 | (11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 98/38192 |
| | | (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: | 3. September 1998 (03.09.98) |
| (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP98/01060 (22) Internationales Anmeldedatum: 25. Februar 1998 (25.02.98) (30) Prioritätsdaten: 197 07 505.3 25. Februar 1997 (25.02.97) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): GESELLSCHAFT FÜR BIOTECHNOLOGISCHE FORSCHUNG MBH (GBF) [DE/DE]; Mascheroder Weg 1, D-38124 Braunschweig (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): HÖFLE, Gerhard [DE/DE]; Mascheroder Weg 1, D-38124 Braunschweig (DE). SEFKOW, Michael [DE/DE]; Am Neuen Palais 10, D-14469 Potsdam (DE). (74) Anwälte: BOETERS, Hans, D. usw.; Boeters & Bauer, Bereiteranger 15, D-81541 München (DE). | | (81) Bestimmungsstaaten: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, GW, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i> <i>Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i> | |
| (54) Title: EPOTHILONES WITH A MODIFIED SIDE CHAIN (54) Bezeichnung: SEITENKETTENMODIFIZIERTE EPOTHILONE (57) Abstract Disclosed are epothilones with a modified side chain. (57) Zusammenfassung Die Erfindung betrifft seitenkettenmodifizierte Epothilone. | | | |

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

| | | | | | | | |
|-----------|------------------------------|-----------|-----------------------------------|-----------|---|-----------|--------------------------------|
| AL | Albanien | ES | Spanien | LS | Lesotho | SI | Slowenien |
| AM | Armenien | FI | Finnland | LT | Litauen | SK | Slowakei |
| AT | Österreich | FR | Frankreich | LU | Luxemburg | SN | Senegal |
| AU | Australien | GA | Gabun | LV | Lettland | SZ | Swasiland |
| AZ | Aserbaidshan | GB | Vereinigtes Königreich | MC | Monaco | TD | Tschad |
| BA | Bosnien-Herzegowina | GE | Georgien | MD | Republik Moldau | TG | Togo |
| BB | Barbados | GH | Ghana | MG | Madagaskar | TJ | Tadschikistan |
| BE | Belgien | GN | Guinea | MK | Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien | TM | Turkmenistan |
| BF | Burkina Faso | GR | Griechenland | ML | Mali | TR | Türkei |
| BG | Bulgarien | HU | Ungarn | MN | Mongolei | TT | Trinidad und Tobago |
| BJ | Benin | IE | Irland | MR | Mauritanien | UA | Ukraine |
| BR | Brasilien | IL | Israel | MW | Malawi | UG | Uganda |
| BY | Belarus | IS | Island | MX | Mexiko | US | Vereinigte Staaten von Amerika |
| CA | Kanada | IT | Italien | NE | Niger | UZ | Usbekistan |
| CF | Zentralafrikanische Republik | JP | Japan | NL | Niederlande | VN | Vietnam |
| CG | Kongo | KE | Kenia | NO | Norwegen | YU | Jugoslawien |
| CH | Schweiz | KG | Kirgisistan | NZ | Neuseeland | ZW | Zimbabwe |
| CI | Côte d'Ivoire | KP | Demokratische Volksrepublik Korea | PL | Polen | | |
| CM | Kamerun | KR | Republik Korea | PT | Portugal | | |
| CN | China | KZ | Kasachstan | RO | Rumänien | | |
| CU | Kuba | LC | St. Lucia | RU | Russische Föderation | | |
| CZ | Tschechische Republik | LI | Liechtenstein | SD | Sudan | | |
| DE | Deutschland | LK | Sri Lanka | SE | Schweden | | |
| DK | Dänemark | LR | Liberia | SG | Singapur | | |
| EE | Estland | | | | | | |

Seitenkettenmodifizierte Epothilone

Epothilone A und B sind bekannt; vgl. beispielsweise DE 4 138 042 und PCT/EP 96/05 080.

Die Erfindung betrifft nun ein Verfahren zur Herstellung von in 16,17-Stellung modifizierten Epothilonen, bei dem man von 3,7-geschützten oder ungeschützten Epothilonen A oder B ausgeht und

- a) diese an der 16,17-Doppelbindung hydriert oder
- b) an der 16,17-Doppelbindung Halogen addiert oder
- c) an der 16,17-Doppelbindung epoxidiert und gegebenenfalls das erhaltene Epoxid zum 16-Alkohol reduziert.

Das erfindungsgemäße Verfahren kann dadurch gekennzeichnet sein, daß man bei

- Methode (a) mit Diimin oder Wasserstoff und einem heterogenen oder homogenen Metallkatalysator hydriert oder bei
- Methode (c) mit einer Persäure oder einem Dioxiran epoxidiert.

- 2 -

Ferner kann dieses erfindungsgemäße Verfahren dadurch gekennzeichnet sein, daß man die Katada-Reaktion mit Acetanhydrid durchführt und die gewonnenen 21-Acetoxyepothilone gegebenenfalls in an sich bekannter Weise zu 21-Hydroxy-epothilonen A oder B spaltet (Epothilone E bzw. F).

Ferner kann dieses erfindungsgemäße Verfahren dadurch gekennzeichnet sein, daß man die fakultative Spaltung hydrolytisch oder enzymatisch durchführt.

Ferner betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung von in C19-Stellung modifizierten Epothilonen, bei dem man 3,7-geschützte oder ungeschützte Epothilone A oder B in C19-Stellung metalliert und in an sich bekannter Weise mit elektrophilen Reagenzien als in C19-Stellung modifizierte alkyl-, aryl-, heteroaryl-, halogen-, sauerstoff- oder schwefelsubstituierte Epothilone abfängt.

Dieses erfindungsgemäße Verfahren kann dadurch gekennzeichnet sein, daß man mit Butyllithium metalliert.

Ferner betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung von in C27-Stellung modifizierten Epothilonen, bei dem man die Allylgruppierung (C17, C16 und C27) in an sich bekannter Weise an der C27-Methylgruppe durch ein Heteroatom substituiert.

Dieses erfindungsgemäße Verfahren kann dadurch gekennzeichnet sein, daß man die C27-Methylgruppe mit einem Bromatom substituiert, insbesondere mit Hilfe von N-Bromsuccinimid, und das erhaltene Bromid gegebenenfalls in eine C27-Hydroxy-Verbindung überführt.

Schließlich betrifft die Erfindung nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellte Verbindungen.

Ferner betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung von 2,3-ungesättigten Epothilon-N-oxiden, bei dem man entweder

- (i) 3,7-geschützte Epothilone A oder B in an sich bekannter Weise in ein N-Oxid überführt und basisch den 3-Substituenten zur 2,3-Doppelbindung eliminiert oder
- (ii) 7-geschützte oder 7-ungeschützte Epothilone A oder B, die in 2,3-Stellung eine Doppelbindung aufweisen, auf an sich bekannte Weise in ein N-Oxid überführt und

gegebenenfalls das erhaltene N-Oxid einer O-Alkylierung unterwirft und ein O-Alkylierungsprodukt gewinnt.

Ferner betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung von Epothilon-N-oxiden, bei dem man 3,7-geschützte oder ungeschützte Epothilone A oder B in an sich bekannter Weise in ein N-Oxid überführt und das erhaltene N-Oxid gegebenenfalls einer O-Alkylierung unterwirft und ein O-Alkylierungsprodukt gewinnt.

Dieses erfindungsgemäße Verfahren kann dadurch gekennzeichnet sein, daß man die N-Oxidierung mit Persäure oder einem Dioxiran durchführt und für die fakultative O-Alkylierung elektrophile Alkyl-, Aryl- oder Heteroaryl-Reagenzien verwendet, insbesondere Methyliodid oder Trimethyloxoniumtetrafluorborat.

Ferner kann dieses erfindungsgemäße Verfahren dadurch gekennzeichnet sein, daß man ein erhaltenes N-Oxid einer Katada-Reaktion unterwirft, insbesondere gemäß Houben-Weyl, Band E7b, Seite 646.

Ferner kann dieses erfindungsgemäße Verfahren dadurch gekennzeichnet sein, daß man die Katada-Reaktion mit einem aktivierten Carbonsäurederivat durchführt, insbesondere Carbonsäureanhydrid oder Carbonsäurechlorid.

Versuch 1: Diepoxyepothilon A. (1a)

Eine Lösung von Epothilon A (5 mg, 10 μ mol) in Aceton (1 ml) wurde bei 0 °C mit Dimethyldioxiran (0.4 ml, 28 μ mol, 0.07 M in Aceton) versetzt. Die Lösung wurde über einige Stunden auf Raumtemperatur gebracht und 20 h bei dieser Temperatur gerührt. Da nach DC noch Edukt vorhanden war, wurde weiteres Dimethyldioxiran (0.25 ml, 17 μ mol) zugegeben und das Reaktionsgemisch erneut 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand mittels PSC (0.25 x 200 x 200 mm, 10% MeOH:CH₂Cl₂) gereinigt. Es wurden isoliert:

1. 1.4 mg (27%) Diepoxyepothilon A (3:2 Epimerengemisch an C16-C17). R_f : 0.63 (10% MeOH:CH₂Cl₂); R_t : 6.79 (Isomer 1) und 7.39 (Isomer 2) min (RP 18, 250 x 4 mm, MeOH:H₂O 65:35, 1 ml/min); MS: (m/z) = 510 (M⁺); ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, ausgewählte Signale, Isomer 1): δ = 6.96 (s, 1H, H-19), 5.48 (dd, J = 12.2 und 2.5 Hz, 1H, H-15), 4.37 (dbr, J = 10.7 Hz, 1H, H-3), 4.10 (s, 1H, H-17), 3.67 (dd, J = 5.6 und 2.5 Hz, 1H, H-7), 3.14 (qd, J = 6.6 und 2.5 Hz, 1H, H-6), 3.00 (ddd, J = 9.7, 3.6 und 2.5 Hz, 1H, H-13), 2.88 (dt, J = 8.6 und 3.6 Hz, 1H, H-12), 2.71 (s, 3H, H-21), 2.53 (dd, J = 13.7 und 11.7 Hz, 1H, H-2a), 1.41 (s, 3H, H-22), 1.27 (s, 3H, H-26), 1.17 (d, J = 6.6 Hz, 3H, H-24), 1.08 (s, 3H, H-23), 0.97 (d, J = 7.1 Hz, 3H, H-25); (Isomer 2) δ = 6.98 (s, 1H, H-19), 5.11 (dd, J = 11.7 und 2.5 Hz, 1H, H-15), 4.27 (dbr, J = 10.7 Hz, 1H, H-3), 4.14 (s, 1H, H-17), 3.06 (qd, J = 6.6 und 2.9 Hz, 1H, H-6), 2.96 (ddd, J = 9.7, 3.6 und 2.5 Hz, 1H, H-13), 2.31 (dt, J = 14.7 und 2.0 Hz, 1H, H-14a), 1.36 (s, 3H, H-22), 1.15 (d, J = 6.6 Hz, 3H, H-24), 1.14 (s, 3H, H-26), 1.07 (s, 3H, H-23).
2. 0.8 mg (16%) Epothilon A N-Oxid. R_f : 0.44 (10% MeOH:CH₂Cl₂); R_t : 4.25 min (RP 18, 250 x 4 mm, MeOH:H₂O 65:35, 1 ml/min); MS: (m/z) = 510 (M⁺); ¹H-NMR: siehe Methode 1

Versuch 2: Dihydroepothilon A. (1c)

Zu einer Lösung von Epothilon A (11 mg, 22 μ mol) in Ethanol (2 ml) wurde Palladium auf Aktivkohle (5 mg, 10%) gegeben und die schwarze Suspension 24 h bei Raumtemperatur einer H₂-Atmosphäre ausgesetzt. Da die Umsetzung nach DC noch nicht vollständig war, wurde eine weitere Portion Pd/C zugesetzt und das Reaktionsgemisch weitere 20 h unter einer H₂-Atmosphäre gerührt. Die Trennung der Produkte erfolgte mittels PSC (1 x 200 x 200 mm, 10% MeOH:CH₂Cl₂). Es wurden isoliert:

1. 0.5 mg (5%) Dihydroepothilon A. R_f : 0.60 (10% MeOH:CH₂Cl₂); R_t : 10.80 min (RP 18, 250 x 4 mm, MeOH:H₂O 65:35, 1 ml/min); MS: (m/z) = 496 (M⁺), 478, 408, 308; ¹H-NMR (400

MHz, CDCl₃, ausgewählte Signale): δ = 7.05 (d, J = 6.6 Hz, 1H, OH), 6.77 (s, 1H, H-19), 5.23 (dd, J = 12.4 und 2.3 Hz, 1H, H-15), 4.42 (ddd, J = 11.7, 6.6 und 3.0 Hz, 1H, H-3), 3.70 (ddd, J = 5, 3 und 2 Hz, 1H, H-7), 3.12 (qd, J = 6.6 und 3.0 Hz, 1H, H-6), 3.07 (d, J = 12.7 Hz, 1H, H-17a), 2.96 (ddd, J = 9.7, 3.6 und 2.0 Hz, 1H, H-13), 2.91 (ddd, J = 9.7, 3.6 und 2.6 Hz, 1H, H-12), 2.68 (s, 3H, H-21), 2.51 (dd, J = 13.7 und 11.7 Hz, 1H, H-2a), 2.24 (d, J = 12.7 Hz, 1H, H-17b), 2.19 (m, 1H, H-16), 2.13 (dd, J = 13.7 und 3.0 Hz, 1H, H-2b), 1.35 (s, 3H, H-22), 1.15 (d, J = 6.6 Hz, 3H, H-24), 1.09 (s, 3H, H-23), 0.99 (d, J = 7.1 Hz, 3H, H-25), 0.93 (d, J = 6.6 Hz, 3H, H-26).

2. 8 mg (72%) 15-Deoxy-dihydroepothilonsäure. R_f : 0.10 (10% MeOH:CH₂Cl₂).

Versuch 3: 16-Hydroxyepothilon A. (1b)

Zu einer Lösung von Diepoxyepothilon A (7 mg, 14 μ mol), 1:1 Epimerengemisch an C-16) in Ethanol (2 ml) wurde Palladium auf Aktivkohle (10 mg, 10%) gegeben und die schwarze Suspension 24 h bei Raumtemperatur einer H₂-Atmosphäre ausgesetzt. Da die Umsetzung nach DC noch nicht vollständig war, wurde eine weitere Portion Pd/C zugesetzt und das Reaktionsgemisch weitere 80 h unter einer H₂-Atmosphäre gerührt. Die Trennung der Produkte erfolgte mittels PSC (1 x 200 x 200 mm, 10% MeOH:CH₂Cl₂). Es wurden isoliert:

1. 3 mg (43%) 16-Hydroxyepothilon A (Isomer 1). R_f : 0.38 (10% MeOH:CH₂Cl₂); R_t : 6.65 min (RP 18, 250 x 4 mm, MeOH:H₂O 65:35, 1 ml/min); ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, ausgewählte Signale): δ = 6.85 (s, 1H, H-19), 5.02 (dd, J = 11.7 und 2.0 Hz, 1H, H-15), 4.38 (dbr, J = 11.2 Hz, 1H, H-3), 3.67 (dd, J = 4 und 3 Hz, 1H, H-7), 3.14 (qd, J = 6.8 und 3.0 Hz, 1H, H-6), 2.95 (d, J = 15.3 Hz, 1H, H-17a), 2.89 (d, J = 15.3 Hz, 1H, H-17b), 2.89 (ddd, J = 10.2, 3.6 und 2.0 Hz, 1H, H-13), 2.81 (ddd, J = 9.7, 3.6 und 2.5 Hz, 1H, H-12), 2.70 (s, 3H, H-21), 2.53 (dd, J = 15.8 und 11.7 Hz, 1H, H-2a), 2.14 (dd, J = 15.8 und 2.0 Hz, 1H, H-2b), 2.08 (dt, J = 14.3 und 2.0 Hz, 1H, H-14a), 1.39 (s, 3H, H-22), 1.25 (s, 3H, H-26), 1.19 (d, J = 6.6 Hz, 3H, H-24), 1.05 (s, 3H, H-23), 0.99 (d, J = 7.1 Hz, 3H, H-25).

2. 3 mg (43%) 16-Hydroxyepothilon A (Isomer 2). R_f : 0.31 (10% MeOH:CH₂Cl₂); R_t : 6.10 min (RP 18, 250 x 4 mm, MeOH:H₂O 65:35, 1 ml/min); ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, ausgewählte Signale): δ = 6.85 (s, 1H, H-19), 5.21 (dd, J = 11.3 und 1.9 Hz, 1H, H-15), 4.42 (dbr, J = 10.5 Hz, 1H, H-3), 3.71 (sbr, 1H, H-7), 3.21 (d, J = 14.3 Hz, 1H, H-17a), 3.13 (qd, J = 6.8 und 3.0 Hz, 1H, H-6), 3.09 (dt, J = 9.8 und 3.4 Hz, 1H, H-13), 2.87 (dt, J = 9.4 und 3.0 Hz, 1H, H-12), 2.73 (d, J = 14.3 Hz, 1H, H-17b), 2.68 (s, 3H, H-21), 2.63 (dd, J = 16.6 und 11.7 Hz, 1H, H-2a),

2.27 (dt, $J = 14.7$ und 2.3 Hz, 1H, H-14a), 2.24 (dd, $J = 16.6$ und 2.6 Hz, 1H, H-2b), 1.39 (s, 3H, H-22), 1.22 (s, 3H, H-26), 1.19 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-24), 1.05 (s, 3H, H-23), 0.99 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H, H-25).

Epothilon A-*N*-oxid (2a): Zu 100 mg Epothilon A in 1 ml Dichlormethan werden 100 mg 70%ige *m*-Chlorperbenzoesäure in 0.5 ml Dichlormethan gegeben. Nach 6-stündigem Rühren bei Raumtemperatur wird mit Dichlormethan verdünnt und nacheinander mit Natriumsulfitlösung zur Zerstörung von überschüssiger Persäure und Natriumbicarbonatlösung ausgeschüttelt. Das Lösungsmittel wird i. Vak abgedampft, der Rückstand durch präparative HPLC an einer Nucleosil RP-18 Säule (250 x 20 mm, Laufmittel Methanol/Wasser 60 :40) aufgetrennt. Ausbeute 60 mg farbloses Öl.

R_f - 0.60 (Kieselgel DC Alufolie, Laufmittel Dichlormethan/Methanol):1);

ESI-MS (neg. Ionen) m/z 510;

UV (Methanol); λ_{max} 240nm;

^{13}C -NMR (CDCl_3): C-1 70.5, C-2 39.9, C-3 70.8, C-4 55.1, C-5 221.4, C-6 40.9, C-7 72.9, C-8 37.6, C-9 31.8, C-10 22.8, C-11 28.0, C-12 58.0, C-13 55.8, C-14 32.2, C-15 75.5, C-16 144.5, C-17 111.4, C-18 143.4, C-19 110.3, C-20 145.6, C-21 13.5, C-22 15.4, C-23 23.3, C-24 12.0, C-25 16.5, C-27 18.2 ppm;

21-Acetoxyepothilon A (= 21-Acetylepothilon E) (3a): Zu 50 mg Epothilon A-*N*-oxid (2a) in 0.5 ml Dichlormethan werden 0.05 ml 2,6-Di-tert.-butylpyridin und 0.1 ml Acetanhydrid gegeben. Nach 15 Minuten Erwärmen auf 75°C werden im Vakuum Lösungsmittel und Reagenzien abgedampft, der Rückstand durch präparative HPLC an Nucleosil RP-18 (250 x 20 mm, Laufmittel Methanol / Wasser 60 : 40) aufgetrennt. Ausbeute 30 mg farbloses Öl.

R_f - 0.50 (Kieselgel DC Alufolie, Laufmittel Dichlormethan/Methanol 95:5);

ESI-MS (neg. Ionen): m/z 552;

UV (Methanol) λ_{max} 210, 250 nm;

H-NMR (CDCl_3 , gegenüber 2a veränderte Signale): 15-H 5.45 dd, 17-H 6.60 s, 19-H 7.15 s, 21-H₂ 5.35 s, CH_3CO 2.15 s ppm.

Epothilon E (3b): Zu 10 mg 21-Acetoxyepothilon A (3a) in 0.5 ml Methanol gibt man 1 Tropfen konz. Ammoniaklösung, erwärmt 1 Stunde auf 40°C und dampft i. Vak. zur Trockene ein. Der Rückstand wird durch präparative DC aufgetrennt. Ausbeute 6mg, identisch mit einer authentischen Probe Epothilon E.

Versuch 4: 19-Methylepothilon A. (4b)

Eine Lösung von Epothilon A (15 mg, 30 µmol) in THF (1 ml) wurde bei -90 °C mit *n*-Butyllithium (100 µl, 160 µmol, 1.6 M in Hexan) versetzt. Die Lösung färbte sich sofort goldorange. Nach 15 min Rühren bei -90 °C wurde die Reaktionslösung mit Methyljodid (100 µl, 1.6 mmol) versetzt. Die resultierende schwach grünlichgelbe Lösung wurde auf -30 °C erwärmt und mit pH = 7.0 Puffer (2 ml) gequenscht. Mit 0.1 N Salzsäure wurde die Emulsion auf pH 6 gebracht. Nach Sättigung mit festem NaCl wurde die wäßrige Phase mit CH₂Cl₂ (2 x 5 ml) und Ethylacetat (5 ml) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotavap entfernt. Die Reinigung erfolgte über PSC (1 x 200 x 200 mm, 10% MeOH:CH₂Cl₂) und HPLC (RP 18, 250 x 16 mm, MeOH:H₂O 65:35). Es wurden isoliert:

1. 2.5 mg (17%) 19-Methylepothilon A. *R_f*: 0.50 (10% MeOH:CH₂Cl₂); *R_t*: 11.70 min (RP 18, 250 x 4 mm, MeOH:H₂O 65:35, 1 ml/min); MS: (*m/z*) = 508 (*M*⁺), 420, 320; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, ausgewählte Signale): δ = 6.41 (s, 1H, H-17), 5.46 (dd, *J* = 9.0 und 2.3 Hz, 1H, H-15), 4.15 (dd, *J* = 10.5 und 3.0 Hz, 1H, H-3), 3.77 (dd, *J* = 8 und 4 Hz, 1H, H-7), 3.20 (qd, *J* = 6.8 und 4.5 Hz, 1H, H-6), 3.04 (dt, *J* = 7.5 und 3.8 Hz, 1H, H-13), 2.91 (dt, *J* = 7.5 und 3.8 Hz, 1H, H-12), 2.61 (s, 3H, H-21), 2.51 (dd, *J* = 14.4 und 10.5 Hz, 1H, H-2a), 2.38 (dd, *J* = 14.4 und 3.0 Hz, 1H, H-2b), 2.32 (s, 3H, H-27), 2.15 (ddd, *J* = 15.1, 3.8 und 3.0 Hz, 1H, H-14a), 2.01 (d, *J* = 1.5 Hz, 3H, H-26), 1.91 (dt, *J* = 15.1 und 8.8 Hz, 1H, H-14b), 1.34 (s, 3H, H-22), 1.16 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, H-24), 1.10 (s, 3H, H-23), 1.00 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, H-25).

2. ca. 50% Epothilon A

Versuch 5: 19-Bromepothilon A. (4a)

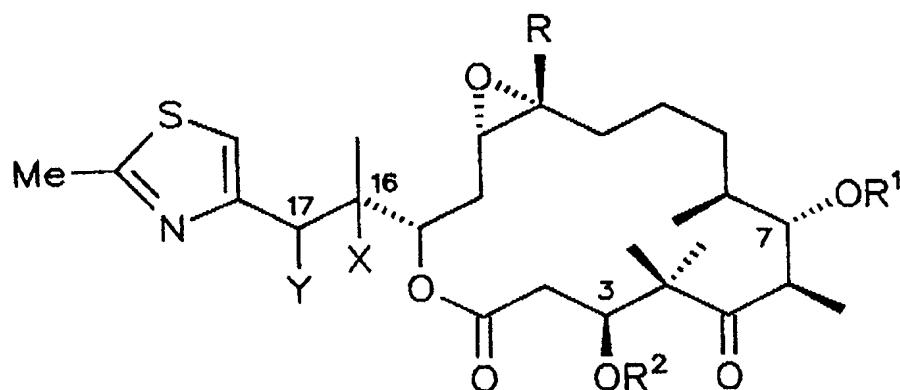
Eine Lösung von Epothilon A (25 mg, 50 µmol) in THF (2.5 ml) wurde bei -90 °C mit *n*-Butyllithium (160 µl, 225 µmol, 1.6 M in Hexan) versetzt. Die Lösung färbte sich sofort

goldorange. Nach 15 min Rühren bei -90 °C wurde N-Bromsuccinimid (27 mg, 150 µmol), gelöst in THF (0.5 ml), hinzugegeben. Die Lösung entfärbte sich langsam. Die nun schwach bräunliche Reaktionsmischung wurde auf -30 °C erwärmt und mit 0.1 N Salzsäure (1 ml) auf pH 6.5 gebracht. Nach Sättigung mit festem NaCl wurde die wäßrige Phase mit CH₂Cl₂ (2 x 5 ml) und Ethylacetat (5 ml) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotavap entfernt. Die Reinigung erfolgte über PSC (1 x 200 x 200 mm, 10% MeOH:CH₂Cl₂) und HPLC (RP 18, 250 x 16 mm, MeOH:H₂O 65:35). Es wurden isoliert:

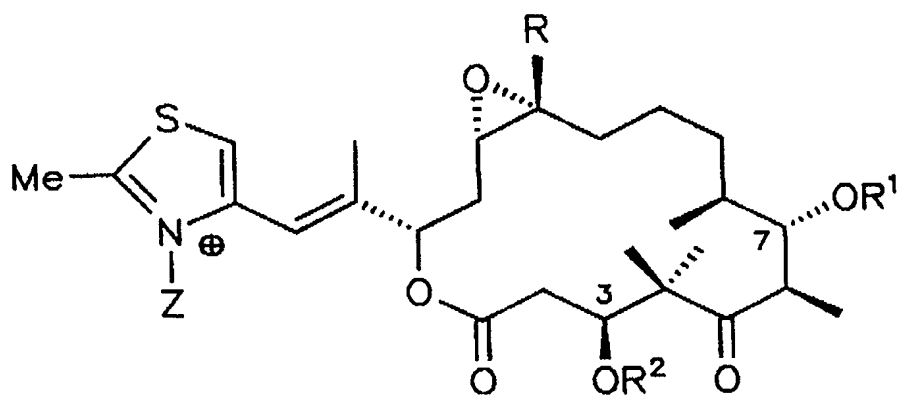
1. 2.6 mg (9%) 19-Bromepothilon A. R_f : 0.53 (10% MeOH:CH₂Cl₂); R_t : 20.78 min (RP 18, 250 x 4 mm, MeOH:H₂O 65:35, 1 ml/min); MS: (m/z) = 574 und 572 (M^+), 556, 554, 468, 466, 386, 384, 341; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, ausgewählte Signale): δ = 6.43 (s, 1H, H-17), 5.46 (dd, J = 8.7 und 2.3 Hz, 1H, H-15), 4.13 (ddd, J = 9.4, 6.0 und 3.8 Hz, 1H, H-3), 3.80 (dd, J = 8 und 4 Hz, 1H, H-7), 3.38 (d, J = 6.0 Hz, 1H, OH), 3.22 (qd, J = 6.8 und 5.3 Hz, 1H, H-6), 3.05 (dt, J = 8.3 und 4.1 Hz, 1H, H-13), 2.91 (dt, J = 7.5 und 3.7 Hz, 1H, H-12), 2.66 (s, 3H, H-21), 2.55 (dd, J = 14.7 und 9.4 Hz, 1H, H-2a), 2.47 (dd, J = 14.7 und 3.8 Hz, 1H, H-2b), 2.16 (d, J = 1.1 Hz, 3H, H-26), 2.14 (dt, J = 14.7 und 3.8 Hz, 1H, H-14a), 1.90 (dt, J = 15 und 8.3 Hz, 1H, H-14b), 1.34 (s, 3H, H-22), 1.17 (d, J = 6.8 Hz, 3H, H-24), 1.11 (s, 3H, H-23), 1.01 (d, J = 6.8 Hz, 3H, H-25).

2. ca. 60% Epothilon A.

Synthesebeispiele 1a bis 5a

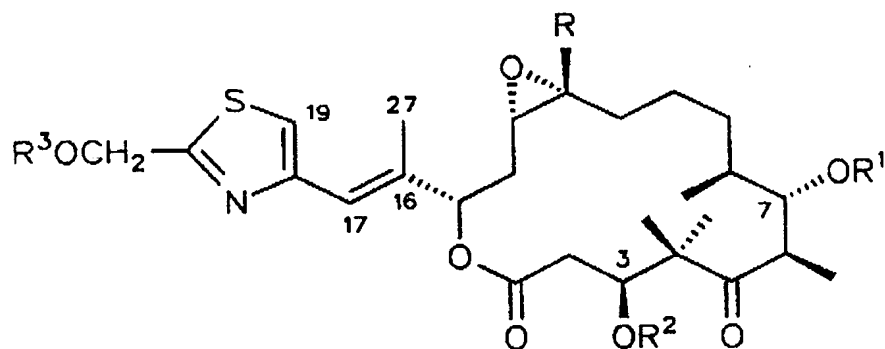


- 1a** $R^1, R^2 = H, X, Y = -O-$, $R = H$
b $R^1, R^2 = H, X = OH, Y = H$, $R = H$
c $R^1, R^2 = H, X = H, Y = H$, $R = H$

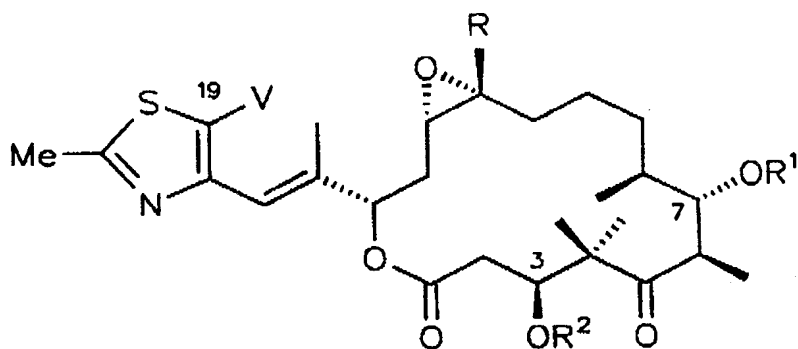


- 2a** $R^1, R^2 = H, Z = O^-$, $R = H$
b $R^1, R^2 = H, Z = OCH_3, BF_4^-$, $R = H$

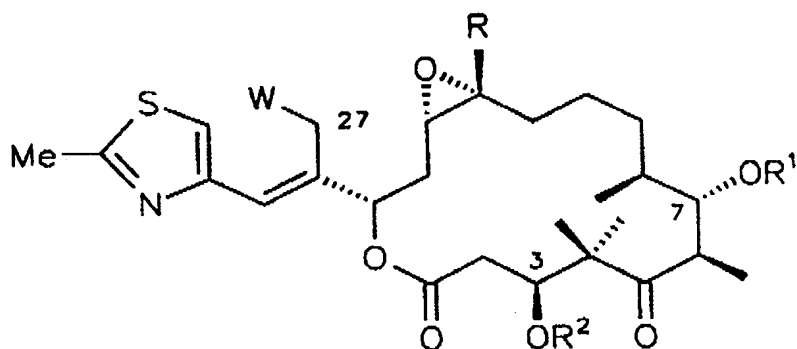
- 10 -



- 3a** $R^1, R^2 = H, R^3 = \text{Acetyl}, R = H$
b $R^1, R^2, R^3 = H, R = H$



- 4a** $R^1, R^2 = H, V = \text{Br}, R = H$
b $V = \text{CH}_3, R^1, R^2 = H, R = H$



- 5a** $R^1, R^2 = H, W = \text{OH}, R = H$

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von in 16,17-Stellung modifizierten Epothilonen, bei dem man von 3,7-geschützten oder ungeschützten Epothilonen A oder B ausgeht und
 - a) diese an der 16,17-Doppelbindung hydriert oder
 - b) an der 16,17-Doppelbindung Halogen addiert oder
 - c) an der 16,17-Doppelbindung epoxidiert und gegebenenfalls das erhaltene Epoxid zum 16-Alkohol reduziert.
2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß man bei
 - Methode (a) mit Diimin oder Wasserstoff und einem heterogenen oder homogenen Metallkatalysator hydriert oder
 - Methode (c) mit einer Persäure oder einem Dioxiran epoxidiert.

3. Verfahren zur Herstellung von 2,3-ungesättigten Epothilon-N-oxiden, bei dem man entweder
- (i) 3,7-geschützte Epothilone A oder B in an sich bekannter Weise in ein N-Oxid überführt und basisch den 3-Substituenten zur 2,3-Doppelbindung eliminiert oder
 - (ii) 7-geschützte oder 7-ungeschützte Epothilone A oder B, die in 2,3-Stellung eine Doppelbindung aufweisen, auf an sich bekannte Weise in ein N-Oxid überführt und
- gegebenenfalls das erhaltene N-Oxid auf an sich bekannter Weise einer O-Alkylierung unterwirft und ein O-Alkylierungsprodukt gewinnt.
4. Verfahren zur Herstellung von Epothilon-N-oxiden, bei dem man 3,7-geschützte oder ungeschützte Epothilone A oder B in an sich bekannter Weise in ein N-Oxid überführt und das erhaltene N-Oxid gegebenenfalls einer O-Alkylierung unterwirft und ein O-Alkylierungsprodukt gewinnt.
5. Verfahren nach Anspruch 3 oder 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß man die N-Oxidierung mit Persäure oder einem Dioxiran durchführt und für die fakultative O-Alkylierung elektrophile Alkyl-, Aryl- oder Heteroaryl-Reagenzien verwendet, insbesondere Methyliodid oder Trimethyloxoniumtetrafluorborat.
6. Verfahren nach Anspruch 3 oder 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß man ein erhaltenes N-Oxid einer Katada-Reaktion unterwirft, insbesondere gemäß Houben-Weyl, Band E7b, Seite 646.
7. Verfahren nach Anspruch 6, **dadurch gekennzeichnet**, daß man die Katada-Reaktion mit einem aktivierten Carbonsäurederivat durchführt, insbesondere Carbonsäureanhydrid oder Carbonsäurechlorid.

- 13 -

8. Verfahren nach Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet**, daß man die Katada-Reaktion mit Acetanhydrid durchführt und die gewonnenen 21-Acetoxyepothilone gegebenenfalls in an sich bekannter Weise zu 21-Hydroxy-epothilonen A oder B spaltet (Epothilone E bzw. F).
9. Verfahren nach Anspruch 8, **dadurch gekennzeichnet**, daß man die fakultative Spaltung hydrolytisch oder enzymatisch durchführt.
10. Verfahren zur Herstellung von in C19-Stellung modifizierten Epothilonen, bei dem man 3,7-geschützte oder ungeschützte Epothilone A oder B in C19-Stellung metalliert und in an sich bekannter Weise mit elektrophilen Reagenzien als in C19-Stellung modifizierte alkyl-, aryl-, heteroaryl-, halogen-, sauerstoff- oder schwefelsubstituierte Epothilone abfängt.
11. Verfahren nach Anspruch 10, **dadurch gekennzeichnet**, daß man mit Butyllithium metalliert.
12. Verfahren zur Herstellung von in C27-Stellung modifizierten Epothilonen, bei dem man die Allylgruppierung (C17, C16 und C27) in an sich bekannter Weise an der C27-Methylgruppe durch ein Heteroatom substituiert.
13. Verfahren nach Anspruch 12, **dadurch gekennzeichnet**, daß man die C27-Methylgruppe mit einem Bromatom substituiert, insbesondere mit Hilfe von N-Bromsuccinimid, und das erhaltene Bromid gegebenenfalls in eine C27-Hydroxy-Verbindung überführt.

- 14 -

14. Verbindungen, erhältlich nach einem Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

| | |
|-----------|----------------|
| Internat. | Application No |
| PCT/EP | 98/01060 |

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 C07D493/04 //(C07D493/04, 313:00, 303:00)

According to International Patent Classification(IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|----------|--|-----------------------|
| A | WO 93 10121 A (GBF) 27 May 1993 see claim 1 & DE 41 38 042 A (GBF) 27 May 1993 cited in the application ---- | 1 |
| P,A | K.C. NICOLAOU ET AL.: "Designed epothilones: combinatorial synthesis, tubulin assembly properties, and cytotoxic action against taxol-resistant tumor cells" ANGEWANDTE CHEMIE. INTERNATIONAL EDITION., vol. 36, no. 19, 1997, WEINHEIM DE, pages 2097-2103, XP002070869 see table 1 ----- | 1 |

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

8 July 1998

Date of mailing of the international search report

29/07/1998

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Alfaro Faus, I

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Internati Application No

PCT/EP 98/01060

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| WO 9310121 A | 27-05-1993 | DE 4138042 A | 27-05-1993 |
| | | AU 2943792 A | 15-06-1993 |
| <hr/> | | | |

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internatic :s Aktenzeichen

PCT/EP 98/01060

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 6 C07D493/04 //(C07D493/04,313:00,303:00)

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 C07D

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|-----------|--|--------------------|
| A | WO 93 10121 A (GBF) 27.Mai 1993 siehe Anspruch 1 & DE 41 38 042 A (GBF) 27.Mai 1993 in der Anmeldung erwähnt --- | 1 |
| P,A | K.C. NICOLAOU ET AL.: "Designed epothilones: combinatorial synthesis, tubulin assembly properties, and cytotoxic action against taxol-resistant tumor cells" ANGEWANDTE CHEMIE. INTERNATIONAL EDITION., Bd. 36, Nr. 19, 1997, WEINHEIM DE, Seiten 2097-2103, XP002070869 siehe Tabelle 1 ----- | 1 |

☐ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfindenscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

8. Juli 1998

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

29/07/1998

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Alfaro Faus, I

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/01060

| Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument | Datum der Veröffentlichung | Mitglied(er) der Patentfamilie | Datum der Veröffentlichung |
|--|-------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| WO 9310121 A | 27-05-1993 | DE 4138042 A | 27-05-1993 |
| | | AU 2943792 A | 15-06-1993 |
| <hr/> | | | |